Die physikalisch-chemische Analyse adsorbierter Eiweissmoleküle in der Grenzfläche fest-flüssig

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

genehmigt von der

Friedrich-Wilhelm-Universität zu Berlin

Von

Richard Rhodius

aus Düren

Tag der Prüfung: 15. November 1934

Tag der Promotion

10. Mai 1935

Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H.

Leipzig 1935

4

Referenten: Prof. Dr. M. Bodenstein
Prof. Dr. W. Schlenk

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus „Zeitschrift für physikalische Chemie", Abteilung A
Band 172, Seite 321—347. 1935
Akademische Verlagsgesellschaft m. b. H., Leipzig.

Gewidmet meinen lieben Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550822_0222

1. Die Adsorption von Ovalbumin und Gelatine an Quarz gehorcht der LANGMUIR-Isotherme.

2. Parallel zu den Versuchen mit Quarzpulver wird die Adsorption von Gelatine an Quarzplatten bekannter Oberflächengrösse bestimmt. Aus den bei einer Gleichgewichtskonzentration in beiden Versuchsreihen adsorbierten Gelatinemengen lässt sich die adsorbierende Oberfläche des Quarzpulvers bestimmen.

3. Aus der so ermittelten Pulveroberfläche und dem aus der LANGMUIR-Isotherme extrapolierten Sättigungswert lässt sich für Eieralbumin im isoelektrischen Punkt (I.P.) die Grösse des Moleküls berechnen. Die gefundenen Werte für die Moleküldimensionen stimmen mit den von SVEDBERG angegebenen sehr genau überein. Aus der Isotherme lässt sich die Bedeckungsdichte für jede Gleichgewichtskonzentration berechnen.

4. Das adsorbierte Protein wird trotz der Gültigkeit der Isotherme irreversibel gebunden. Lässt man an Quarzpulver aus konzentrierten Proteinlösungen adsorbieren und wäscht das Adsorbat erschöpfend mit Wasser aus, so erhält man zu Ende als adsorbierte Menge irreversibel gebunden den aus der LANGMUIR-Isotherme errechneten Sättigungswert für die monomolekulare Schicht. Falls in konzentrierten Lösungen überhaupt noch eine oder mehrere weitere Adsorptionsschichten gebildet werden, sind diese reversibel gebunden und verschwinden beim Auswaschen.

5. Das ζ-Potential der Quarzteilchen in Pufferlösung von p_H 4·8 sinkt linear mit zunehmender Bedeckungsdichte mit Eieralbumin von dem Wert für reinen Quarz auf $\zeta = 0$, das bei 100 % iger Bedeckung erreicht wird.

6. Wird das ζ-Potential der bei isoelektrischer Reaktion hergestellten Quarz-Albuminadsorbate bei p_H 3 bestimmt, so ergibt sich ebenfalls eine lineare Änderung mit der Bedeckungsdichte. Bei einer Bedeckung von 30 % ist jedoch ζ von der Bedeckungsdichte schon unabhängig. Daraus und aus den Adsorptionssättigungswerten folgt, dass der Platzbedarf der Proteinmoleküle bei p_H 3 etwa drei- bis viermal so gross ist wie im I.P. Entsprechend lässt sich aus einer bei p_H 4·8 vollständig bedeckten Quarzoberfläche rund 50 % des Proteins beim Auswaschen mit Puffer vom p_H 3 von der Oberfläche verdrängen.

7. Die Benetzungsgeschwindigkeit der mit Ovalbumin bedeckten Quarzpulver wird gemessen. In der Nähe 50 % iger Bedeckung gehen die Adsorbate äusserst schnell vom hydrophilen in den hydrophoben Zustand über. Es wird eine Theorie angegeben, warum die Benetzungsänderungen bei 50 % iger Oberflächenbedeckung der Präparate eintreten soll.

8. Im ganzen ergibt sich, dass Aufladung, Molekülgrösse und allgemeines Verhalten des adsorbierten Proteins den entsprechenden Eigenschaften der gelösten Moleküle gleicht, trotz der irreversiblen adsorptiven Bindung des Eiweisses. Das Molekül ragt infolge seiner Grösse merklich aus dem Adsorptionsraum heraus, so dass die der Lösung zugewandten Teile der Wirkung der Adsorptionskräfte nicht mehr unterliegen.

9. Es wird ein Mechanismus für die Volumenänderung der Eiweisse in Abhängigkeit vom p_H angegeben und mit Messungen anderer Autoren verglichen. Der Mechanismus beansprucht qualitative Gültigkeit für alle eiweissähnlichen Moleküle. Demnach sollen die Proteine im I.P. ein dichtes, wasserarmes, in sauren und alkalischen Lösungen hingegen ein lockeres, wasserdurchdrungenes Gefüge haben, wobei die genauen Volumenänderungen von der Morphologie des Proteins abhängig sind.

Einleitung.

Eiweisstoffe sind vielfach daraufhin untersucht worden, ob ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften nach der Adsorption in die Grenzfläche fest—flüssig verändert sind. Nach den ersten Beobachtungen von Loeb[1]), dass Kollodiumteilchen in Eiweisslösungen die Eigenschaften des Proteins annehmen, wurde später besonders von Freundlich und Abramson[2]) das elektrische Verhalten derartiger Adsorbate genauer untersucht. Sie fanden, dass z. B. die elektrische Aufladung (das ζ-Potential) von Eieralbumin an Quarzpulver eine Abhängigkeit von der Acidität zeigt, die quantitativ übereinstimmt mit der Aufladung des Eieralbumins in Lösung, die von Svedberg und Tiselius[3]) genauer untersucht worden ist. Die p_H-Abhängigkeit der Ladung eines an Cellulose adsorbierten Eieralbumins wurde später von Briggs[4]) an Strömungspotentialmessungen verfolgt. Seine Ergebnisse stimmen mit denen von Tiselius und Abramson überein, so dass man daraus auf eine weitgehende Gleichheit des Verhaltens des Ovalbumins an verschiedenen Grenzflächen und in Lösung schliessen kann. Abramson erklärt später[5]) diese Übereinstimmungen damit, dass bei seinen Versuchen eine mehrmolekulare Adsorptionsschicht vorliegt, so dass die äussere Molekellage sich nicht von den Molekülen in Lösung unterscheidet.

Die Adsorption von Eieralbumin an Kollodiummembranen hat Hitchcock[6]) eingehend untersucht. Er fand die Langmuir-Isotherme

---

[1]) Loeb, J., Die Eiweisskörper. Berlin 1924. [2]) Freundlich, H. und Abramson, H. A., Z. physik. Chem. **133** (1928) 53. [3]) Svedberg und Tiselius, A., J. Amer. chem. Soc. **48** (1926) 2272. [4]) Briggs, D. J., J. Amer. chem. Soc. **50** (1928) 2358. [5]) Abramson, J. gen. Physiol. **15** (1932) 575. [6]) Hitchcock, D. J., J. gen. Physiol. 8 (1925) 61.

bestätigt. Seine Messungen lassen vermuten, dass die Adsorptionssättigung bei einer einmolekularen Schicht erreicht ist. Den quantitativen Beweis dafür würde man erst erbringen können, wenn man Adsorptionsversuche an einer Oberfläche bekannter Grösse vornehmen könnte. In der Literatur besteht hier eine Lücke, die auszufüllen ein Ziel der vorliegenden Arbeit war. Erst wenn man die bei jeder Eiweisskonzentration adsorbierte Menge Eiweiss und damit die Bedeckungsdichte der Oberfläche kennt, lassen sich die Angaben von Abramson und anderen über das Verhalten von Protein in Grenzflächen quantitativ auswerten. Man wird dann auch die Frage entscheiden können, ob die erste Molekellage der Adsorptionsschicht ein besonderes, vom normalen abweichendes Verhalten zeigt.

Man konnte auch hoffen, die Beobachtungen von Freundlich, Enslin und Lindau[1]), die das Verhalten hydrophiler und hydrophober Pulver gegenüber Eiweisstoffen bezüglich ihrer Benetzbarkeit untersuchten, quantitativ zu erfassen. Sie hatten gefunden, dass die Benetzbarkeit eines hydrophoben Pulvers bei zunehmender Adsorption eines hydrophilen Kolloids in einem sehr engen Konzentrationsbereich sehr stark ansteigt, das Umgekehrte gilt von der Benetzbarkeit hydrophiler Pulver durch ein hydrophobes Kolloid. Hier den quantitativen Zusammenhang mit der Bedeckungsdichte zu finden, wäre zugleich auch für die Frage der Benetzbarkeit und besonders für die Praxis der Flotation von erheblichem Interesse.

Für unsere Versuche wählten wir Eieralbumin. Die Messungen von Svedberg[2]) hatten ergeben, dass das Molekül des Eieralbumins weitgehend kugelförmig ist, er konnte ferner den Radius dieser Kugel berechnen. Auch die sonstigen physikalisch-chemischen Eigenschaften sind soweit untersucht worden, dass Zahlenangaben für Vergleichsmessungen vorlagen. Wir verwandten Eieralbumin Merck, das in bekannter Weise[3]) durch Elektrodialyse gereinigt wurde. In einzelnen Fällen wurde auch Gelatine (eine Handelsgelatine der Firma Stoess in Heidelberg) herangezogen. Als Adsorbens diente Quarzpulver.

I. Die quantitative Bestimmung der Adsorption von Eieralbumin an Quarzpulver bekannter Oberflächengrösse.

Die Adsorption von Eieralbumin an Quarz ist quantitativ bisher nicht untersucht worden. Aus den Messungen von Hitchcock an

[1]) Freundlich, Enslin und Lindau, Kolloid-Beih. **37** (1933) 242. [2]) Svedberg, Kolloid-Z. **51** (1930) 10. [3]) Siehe die Monographie von H. P. Prausnitz und J. Reitstötter.

Kollodiummembranen war lediglich die Gültigkeit der LANGMUIR-Isotherme nachgewiesen worden. Der Beweis dafür, dass bei Adsorptionssättigung eine monomolekulare Schicht vorliegt, kann erst erbracht werden, wenn die Oberfläche des Adsorbens bekannt ist. Die Adsorption der Proteine an Grenzflächen erfolgt im allgemeinen irreversibel[1]). Die gleiche Erscheinung hat man bei der Aufnahme von Farbstoffen an Fasern oder an Kohle vielfach beobachtet; sie beruht wohl darauf, dass nach der primären, noch reversiblen Adsorption eine sekundäre Bindung irreversibler Art eintritt. Auch in derartigen Fällen hatte sich die Adsorptionsisotherme stets als gültig erwiesen, so dass in der formalen Behandlung kein Unterschied zu Fällen der reversiblen Adsorption besteht.

Experimentelle Methodik.

Das als Adsorbens verwandte Quarzpulver wurde durch Schlämmanalyse fraktioniert. Zur Reinigung wurde das Pulver mehrfach in kochendem Königswasser behandelt und danach in destilliertem Wasser wiederholt ausgekocht, bis keine Säure mehr im Waschwasser nachweisbar war. Eine Fraktion mit einer durchschnittlichen Teilchengrösse von etwa 8 μ wird im folgenden als Pulver II bezeichnet. Ein Pulver I war nicht fraktioniert. Seine mittlere Teilchengrösse kann mit ungefähr 6 μ angesetzt werden. Die Oberfläche der Pulver wurde unter der Annahme würfelförmiger Teilchen berechnet. Die Fehler einer solchen Schätzung liegen auf der Hand, da man weder mit einer einigermassen gleichartigen Teilchenform wie Teilchengrösse rechnen kann. Die grösste Schwierigkeit bestand darin, die Oberfläche des Quarzpulvers genau zu bestimmen. Die PANETHsche Methode, die sich der Austauschadsorption radioaktiver Substanzen bedient, ist hier nicht anwendbar; die colorimetrische Methode der Adsorption von Methylenblau gab unbefriedigende Resultate. Wir versuchten deshalb das Pulver durch Vergleich mit einer Quarzoberfläche gegebener Grösse zu eichen. Es stand uns zu diesem Zweck durch das Entgegenkommen der Quarzschmelze A. G.[2]) ein Satz Quarzplatten von 15 Stück der Grösse 6×8 cm zur Verfügung. Die Platten waren gesintert und vollkommen durchsichtig und hatten, da sie unbearbeitet waren, glatte Oberflächen. Bei sorgfältiger Ausmessung ergab sich ihre gesamte Oberfläche zu 1625 cm^2. Aus der Isotherme des Eiweisses an den Platten und der am Pulver, die geometrisch ähnlich sein müssen (das Verhältnis der adsorbierten Mengen a bei derselben Gleichgewichtskonzentration c muss gleich dem Verhältnis der Oberflächen sein) sollte sich die Oberfläche des Pulvers errechnen lassen.

Die Gefässe, in denen die Adsorption vorgenommen wurde, waren mit Chromschwefelsäure gereinigt und wurden ebenso wie die verwandten Pipetten mit der jeweils benutzten Eiweisslösung durchspült, damit sich das Adsorptionsgleichgewicht einstellte. Bei den Versuchen mit Quarzpulvern erfolgte die Adsorption in Jenaer Bechergläsern unter langsamem Rühren. Das Volumen der Lösung betrug 100 bis

[1]) SPIEGEL, A., Biochem. Z. **252** (1932) 37. [2]) Für das wir auch an dieser Stelle der Quarzschmelze A. G. danken möchten.

200 cm^3, angewandt wurden 5 bis 10 g Quarzpulver, die Adsorptionszeiten waren $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde. Nach DUMMET und BOWDEN[1]) ist das Gleichgewicht in 3 bis 5 Minuten erreicht. Nach der Adsorption wurde das Pulver auf einem Jenaer Glasfilter scharf abgesaugt und im Exsiccator getrocknet.

Da beim Absaugen etwas Gleichgewichtslösung am Pulver bleibt, wurde diese Menge bestimmt und eine entsprechende Korrektur angebracht. 5 g Quarzpulver enthielten 0·64 cm^3 Feuchtigkeit nach dem Absaugen. Bei den sehr verdünnten Eiweisslösungen liegt der Stickstoffgehalt dieser Flüssigkeitsmenge meist innerhalb der Fehlergrenzen.

Für die Adsorptionsversuche an Quarzplatten diente ein 1 Literstutzen als Adsorptionsgefäss. Die 15 Platten standen vertikal in einem Glasgerüst in gegenseitigem Abstand von 3 bis 5 mm. Das Glasgerüst samt Platten hing an einem Rührer und rotierte langsam in der Adsorptionsflüssigkeit. Stutzen und Gestell waren durch Ausspülen mit der Lösung vorher ins Adsorptionsgleichgewicht gebracht. Die Quarzplatten wurden in Königswasser, dann mehrfach in destilliertem Wasser ausgekocht.

Es zeigte sich, dass Eieralbumin bei dem zur Gleichgewichtseinstellung erforderlichem Rühren rasch in einem merklichen Umfange koaguliert. Diese Flockenbildung macht eine genaue Bestimmung bei Verwendung der Platten unmöglich, weil es sich hier um ausserordentlich geringe Konzentrationsänderungen infolge der Adsorption handelt. Bei den Versuchen mit Quarzpulver waren die verwendeten Eiweisskonzentrationen und die adsorbierten Mengen soviel grösser, dass die Koagulation innerhalb der Fehlergrenzen blieb. Es empfahl sich daher, die Grösse der Pulveroberfläche gegen die der Platten durch Adsorptionsversuche mit einem nicht koagulablen Eiweiss zu bestimmen. Dazu erschien uns Gelatine am besten geeignet. Trotz der Undefiniertheit der Gelatine bezüglich des Molekulargewichtes ist ihre Verwendung hier unbedenklich, da es sich nur um Relativmessungen handelt. Es wurden also mit Gelatine als Adsorptiv parallel die Isothermen an den Platten und am Pulver bestimmt und aus der bekannten Plattengrösse die Pulveroberfläche bei gleicher Gleichgewichtskonzentration errechnet. Die verwendeten Gelatinelösungen hatten für die Plattenversuche eine Maximalkonzentration von 0·005 %, sie wurden in Parallelbestimmungen auf ihren Stickstoffgehalt analysiert. Um eine merkliche adsorbierende Fläche zu erhalten, wurden die Platten wiederholt (fünfmal) je 15 Minuten in die Lösung eingetaucht und langsam gedreht. Nach jedem Tauchen wurden sie, wie oben beschrieben, gereinigt. Nach der Adsorption wird die Endkonzentration in der Lösung analysiert. Nach jedesmaligem Tauchen ist die Gleichgewichtskonzentration in der Lösung etwas verändert. Als wahre Gleichgewichtskonzentration wurde daher das Mittel aus Ausgangs- und Endkonzentration angesetzt. Die gewünschten Eiweisskonzentrationen wurden durch Verdünnen konzentrierter Lösungen hergestellt.

Die Stickstoffbestimmung nach KJELDAHL.

1 bis 2 g des eiweissbedeckten, getrockneten Quarzpulvers werden in den KJELDAHL-Kolben gebracht, mit einigen Tropfen $CuSO_4$-Lösung, etwas festen K_2SO_4 und etwa 3 bis 5 cm^3 reiner Schwefelsäure ganz bedeckt und zuerst vorsichtig,

[1]) DUMMET, A. und BOWDEN, P., Proc. Roy. Soc. London **3** (1933) 382.

später über freier Flamme, wie üblich, aufgeschlossen. Der Aufschluss ist innerhalb 1 bis 2 Stunden vollkommen beendet, da meistens nur Eiweissmengen von 1 bis 3 mg vorliegen.

Nach der Vorschrift von BANG wird der alkalisch gemachte Aufschluss mit Wasserdampf in 5 bis 10 cm³ $^1/_{100}$ norm. Schwefelsäure übergetrieben. Die Apparatur wurde vor jeder Bestimmung ausgedämpft. Die überschüssige Schwefelsäure wird mit Natronlauge $^1/_{100}$ norm. (beide Lösungen werden durch Verdünnen von $^1/_{10}$ norm. Lösungen stets frisch hergestellt) zurücktitriert. Als Indikator dient der bei KOLTHOFF[1]) angegebene Mischindikator aus drei Teilen Bromkresolgrün und einem Teil Methylrot (Umschlagspunkt p_H 5·1). Der Umschlag ist auch bei $^1/_{100}$ norm. Säuren sehr scharf: Bei 2 Tropfen (= 0·04 cm³) $^1/_{100}$ norm. Säure geht die Farbe von rot über farblos nach grün. Die Mikrobürette gestattet die Ablesung von 0·01 cm³. Die Schwankungen bei Parallelbestimmungen betrugen meist 0·02 bis 0·04 cm³, entsprechend einer Menge von etwa 0·03 mg Protein. Sämtliche Messungen wurden mindestens einmal, meist mehrfach, reproduziert.

Eine entsprechende Bestimmung des adsorbierten Eiweisses an den Platten lässt sich technisch nicht durchführen. Es wurde deshalb bei den Plattenversuchen die Gleichgewichtslösung analysiert. Zu diesem Zweck werden je 100 cm³ der Lösung im KJELDAHL-Kolben vorsichtig (unter Vermeidung des Schäumens) auf ein möglichst geringes Volumen eingedampft und dann, wie üblich, weiter behandelt. Es ist ohne weiteres klar, dass dies Verfahren weniger genau ist als die Analyse der Pulver, zumal die Unterschiede zwischen der Ausgangs- und Endkonzentration bei den Plattenversuchen klein sind. Daher wurden die Adsorptionsversuche an den Platten stets mehrfach reproduziert.

Messergebnisse.

Tabelle 1 gibt eine Versuchsreihe der Adsorption von Gelatine an Quarzpulver wieder. Es bedeutet c die Gleichgewichtskonzentration in der Lösung (g/100 g Lösung), a die adsorbierte Menge in mg/g Quarzpulver. Die mit einem * versehenen Werte dienten zur Berechnung der Konstanten α und β der LANGMUIR-Isotherme:

$$a = \frac{\alpha c}{1 + \beta c}.$$

Tabelle 1. Adsorptionsisotherme Gelatine-Quarzpulver II.
Konstanten: $\alpha = 124{\cdot}5$. $\beta = 98{\cdot}1$.

c %	a exp. zwei Versuchsreihen		a ber.
0·001	—		0·63
0·0028	*0·92	0·94	(0·93)
0·0055	0·94	0·95	1·07
0·0069	1·10	1·09	1·10
0·0109	*1·15	1·18	(1·16)
0·0144	1·22	1·22	1·19
0·0208	1·37	1·28	1·22
∞	—		1·27

[1]) KOLTHOFF, Säure—Basen-Indikatoren 1932. S. 178.

Entsprechende Versuche an dem anderen Quarzpulver und den Quarzplatten sind in Fig. 1, Kurve I und III wiedergegeben. Die Ordinate für die Adsorptionsisotherme von Gelatine an Quarzplatten bedeutet mg pro $5 \cdot 1625\,cm^2$ Oberfläche (vgl. Experimentelle Methodik).

Aus dem Verhältnis der zu gleichen Abszissen gehörenden Ordinaten in Fig. 1, d. h. dem Verhältnis der absorbierten Menge Gelatine an den Platten und an jedem der Pulver bei der gleichen Gleichgewichtskonzentration wurden die Pulveroberflächen berechnet. So ergibt sich für Pulver I eine Oberfläche von: $3650\,cm^2/g$ Quarz

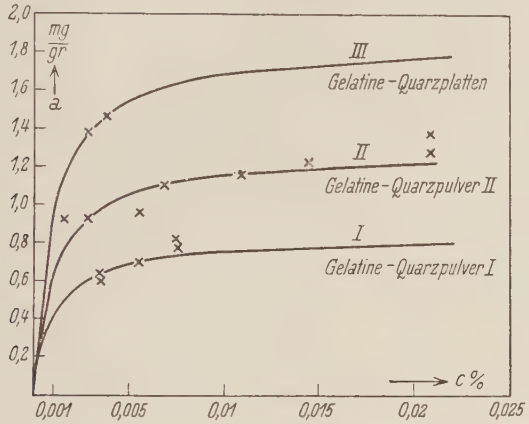


Fig. 1.

(3840 cm^2). Pulver II hat eine Oberfläche von: $5570\,cm^2/g$ Quarz (2770 cm^2). Die in Klammern beigefügten Zahlen sind die unter Annahme würfelförmiger Teilchen berechneten Oberflächen.

Aus der so gewonnenen Kenntnis der Oberflächengrösse der beiden Quarzpulver wird nunmehr die quantitative Festlegung der Adsorptionsisothermen von Eieralbumin an den Quarzpulvern ermöglicht.

Adsorption von Eieralbumin an Quarzpulver.

Der Stickstoffgehalt des bis zur Gewichtskonstanz im Exsiccator getrockneten Eieralbumins wurde bei verschiedenen Präparaten im Mittel zu 15·7 % N gefunden. Der von Sörensen[1]) für Eieralbumin gegebene Faktor 6·4 entspricht einem Gehalt von 15·6 % N.

---

[1]) Sörensen, S. P. L., Kolloid-Z. **53** (1930) 170, 306.

Als Beispiel einer Versuchsreihe dient Tabelle 2, Fig. 2.

Tabelle 2. Adsorptionsisotherme: Ovalbumin-Quarzpulver II.
Konstanten: $\alpha = 39{\cdot}82$. $\beta = 21{\cdot}15$.

c %	a exp.	a ber.
0·00086	*0·29	(0·29)
0·0022	0·72	0·60
0·0031	0·70	0·74
0·0061	1·06	1·06
0·0068	*1·11	(1·11)
0·0083	1·27	1·20
0·0107	1·29	1·30
∞	—	1·88

Die aus den Messergebnissen errechneten Konstanten der Langmuir-Isotherme gestatten die Extrapolation eines Sättigungswertes, der der monomolekularen Bedeckung entspricht. Nach Svedberg hat das Eieralbuminmolekül Kugelsymmetrie, der Radius beträgt 21·7 Å, das Molekulargewicht ist 34500. Daraus lässt sich der Platzbedarf von 1 mg Eieralbumin pro cm² bei engster Kugelpackung (Manegold)[1]) berechnen. Danach beansprucht 1 mg eine Fläche von:

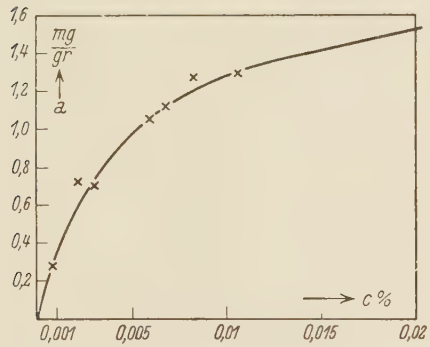


Fig. 2.

2870 cm².

Aus den Adsorptionsversuchen mit Gelatine hatte sich als Oberfläche des Quarzpulvers I und II pro g 3650 cm² und 5570 cm² ergeben. Bei Adsorptionssättigung sind adsorbiert an Pulver I: 1·34 mg Albumin pro g Quarz, bei Pulver II entsprechend 1·88 mg/g. Daraus erhält man unter Annahme engster Kugelpackung für die pro g Albumin beanspruchte Fläche: 2720 cm² und 2950 cm².

Die gute Übereinstimmung mit den Daten von Svedberg sowie die Anwendbarkeit der Isotherme von Langmuir zeigt, dass bei Adsorptionssättigung wirklich eine monomolekulare Adsorptionsschicht entsteht. Ein weiterer Beweis für die Richtigkeit dieser Schlussfolgerung wird später aus kataphoretischen Messungen erbracht werden können.

[1]) Manegold, Kolloid-Z. 56 142.

Die Dicke der Adsorptionsschicht beträgt bei Verwendung der Daten von SVEDBERG: **43 Å.**

Es wurde schon erwähnt, dass nach allen Erfahrungen die Adsorption der Proteine ein irreversibler Vorgang ist. Man konnte vermuten, dass diese Irreversibilität auf einer besonders festen Bindung der monomolekularen Adsorptionsschicht beruht. Bei der Dicke dieser Schicht ist zu erwarten, dass, wenn überhaupt aus hohen Konzentrationen noch eine weitere Menge adsorbiert wird, diese Schicht bereits so weit ausserhalb der Reichweite der Adsorptionskräfte liegt, dass ihre Bindung wesentlich lockerer und reversibel sein wird. Auch im Falle einer chemischen Bindung der ersten Schicht wäre das gleiche zu vermuten. Es wurde zunächst geprüft, ob bei einer Bedeckungsdichte unterhalb der Sättigung die Adsorption wirklich irreversibel ist. In der Tat gibt ein derartiges Adsorbat bei tagelangem Auswaschen mit destilliertem Wasser kein Eiweiss mehr ab.

Wir liessen auch aus konzentrierteren Lösungen an Quarzpulver adsorbieren und wuschen dann das Adsorbat erschöpfend mit destilliertem Wasser aus. In Tabelle 3 sind die nach dem Auswaschen noch adsorbierten Proteinmengen denen aus der LANGMUIR-Isotherme für die Sättigung errechneten gegenübergestellt.

Tabelle 3. Auswaschversuch.

Quarzalbuminpulver	Sättigung aus der LANGMUIR-Isotherme in mg	Auswaschungsversuch in mg	Ausgangskonzentration
I	1·34	1·60	(1·1 % Lösung)
II	1·88	1·92	(0·91 % „)
Quarzgelatinepulver			
II	1·27	1·30	
		1·38	(0·1 % „)
		1·31	

Es zeigt sich, dass über die für monomolekulare Bedeckung berechnete Menge Eiweiss irreversibel kein weiteres Protein auch aus konzentrierten Lösungen aufgenommen wird. Es ist auch sehr zweifelhaft, ob eine weitergehende reversible Adsorption überhaupt stattfindet. Diese Frage lässt sich experimentell nicht leicht prüfen. Die Auswaschversuche sind zugleich ein weiterer Beweis für die Richtigkeit der Sättigungswerte, die wir oben aus den Isothermen errechnet hatten.

II. Die Ladung von Quarz-Ovalbuminadsorbaten in Abhängigkeit von der Bedeckungsdichte der Pulver.

Aus der Kenntnis, wieviel Ovalbumin zur Bildung einer monomolekularen Schicht benötigt wird, lässt sich die Frage beantworten, wie das ζ-Potential von Quarz-Ovalbuminadsorbaten sich mit der Belegungsdichte verändert. Die Frage war auch von FREUNDLICH und ABRAMSON gestellt worden. Ihnen fehlte jedoch die Kenntnis der Oberfläche des von ihnen verwandten Quarzpulvers und der jeweils adsorbierten Menge. Ihre Berechnungen der Belegungsdichten sind daher nur als Überschlagsrechnungen zu werten. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass das Adsorbat das Potential des reinen Albumin annimmt, wenn die Belegungsdichte etwa $^1/_{10}$ einer monomolekularen Schicht beträgt[1]), während ABRAMSON in einer späteren Arbeit[2]) eine zweimolekulare Schicht annimmt.

Genauere Messungen an anderen Stoffen stammen von FRUMKIN[3]). Er mass zuerst mit Hilfe der Luftelektrode das Potential in der Grenzfläche flüssig–gasförmig in Abhängigkeit von der zunehmenden Bedeckung dieser Grenzfläche mit einer Adsorptionsschicht von Äthyloleat, Myristin- und Oleinsäure. Er findet eine lineare Änderung dieses Potentials mit der Belegungsdichte.

Wir bestimmten die Abhängigkeit des ζ-Potentials von der adsorbierten Menge, indem wir Quarzalbuminadsorbate bekannter Belegungsdichte in Essigsäure (HA)-Natriumacetat (NaA)-Puffer einer Acidität von p_H 4·8 suspendierten und die kataphoretische Wanderungsgeschwindigkeit (K.W.) in der Kammer massen.

Zur Messung wurde die aus einem Stück bestehende Kammer in senkrechter Anordnung verwendet. Ihre Handhabung und experimentelle Prüfung ist inzwischen an anderer Stelle mitgeteilt worden[4]).

Experimentelle Ausführung der Kataphoreseversuche.

Die ausgedämpfte Kammer wird zur Messung mit einer verdünnten Suspension des Quarzpulvers in Wasser oder Puffer gefüllt. Nachdem die Strömungen aufgehört haben, was bei Thermokonstanz in wenigen Minuten eintritt, kann gemessen werden. Da die Suspensionen in der senkrechten Kataphoresekammer lebhaft dauernd strömen, wenn man nicht für Thermokonstanz sorgt, wird die Kammer

---

[1]) FREUNDLICH, H. und ABRAMSON, H. A., Z. physik. Chem. **133** (1928) 53. [2]) ABRAMSON, H. A., J. gen. Physiol. **15** (1932) 575. [3]) FRUMKIN, A., Z. physik. Chem. **116** (1925) 485. [4]) ENSLIN, O., LINDAU, G. und RHODIUS, R., Kolloid-Z. **70** (1935) 189.

mit Asbestschnur wärmeisoliert und die Messungen in einem nahezu thermokonstanten Raum (Kellerraum) ausgeführt. Spannung und Länge des zurückgelegten Weges werden so gewählt, dass die Messzeiten etwa 10 Sekunden betragen. Die Zeit wurde auf dem Chronometerband registriert. Jedes Teilchen liessen wir in beiden Richtungen wandern durch Umpolen der Elektroden. Es wird in drei Kammertiefen: $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$ und $\frac{1}{5}$ gemessen und aus den Werten von $\frac{1}{2}$ und $\frac{1}{4}$ nach der Smoluchowskischen Formel die wahre Wanderungsgeschwindigkeit berechnet und mit der in $\frac{1}{5}$ Kammertiefe verglichen. Die Schwankungen der Geschwindigkeiten zwischen den einzelnen Quarzteilchen sind stark, maximal etwa 20 bis 30%. Das rührt hauptsächlich von der Form der Teilchen her. So kann man häufig beobachten, dass die wandernden Teilchen drehende Bewegungen ausführen. Diese Abhängigkeit von der Teilchenform, die von Debye und Hückel in ihren Ansätzen berücksichtigt wurde, steht in Widerspruch zu den Beobachtungen von Abramson und Michaelis[1]), die an Teilchen verschiedener Grösse und Gestalt konstante KW. fanden. Die Schwankungen bei Abramson betragen rund 5%, während wir bei zahlreichen Versuchsreihen (etwa 2000 Einzelmessungen) immer Abweichungen von etwa 20% erhielten. Wie wir schon in einer früheren Arbeit fanden[2]), ist es in der Tat nicht sicher, ob die K.W. von der Teilchenform ganz unabhängig ist. Man kann diesen Einfluss durch Messungen an vielen Teilchen statistisch beseitigen. In jeder Kammertiefe wurden 10 bis 20 Einzelmessungen gemacht und hieraus erhält man einen gemessenen Wert für V (Mittel aus 10 bis 20 Einzelmessungen in $\frac{1}{5}$ Kammertiefe) und einen, nach der Smoluchowskischen Formel aus den Kammertiefen $\frac{1}{2}$ und $\frac{1}{4}$ berechneten. Die Schwankungen zwischen V gemessen und V berechnet, liegen meistens unterhalb 10% und lassen sich innerhalb dieser Fehlergrenze reproduzieren. Bei wenig geladenen Pulvern erhöhen sich die Schwierigkeiten, besonders da die Spannung nicht genügend gesteigert werden kann, denn oberhalb einer kritischen Stromdichte tritt Erwärmung und damit verbunden thermisches Strömen der Quarzteilchen ein.

Es wurden teils die üblichen $Cu/CuSO_4$—Agar-Elektroden, teils polarisierbare Pt-Elektroden verwandt. Bei letzteren wurde das Potentialgefälle mit Hilfselektroden in Kompensationsschaltung gemessen. Im allgemeinen stimmen die nach beiden Methoden gemessenen Werte in Gegenwart des Puffers gut überein, ein störender Einfluss des SO_4^{2-} aus den Elektroden macht sich anscheinend nur bei positiv geladenen Adsorbaten und in sehr elektrolytarmen Lösungen geltend. Die Schwankungen der Endwerte liegen unterhalb 10%, meist bei 5%.

Die Kataphorese von Quarzpulvern in NaA—HA-Puffer, wurde auch von Dummet und Bowden[3]) bestimmt. Sie verwendeten polarisierbare Pt-Elektroden, ohne die Polarisation in der Berechnung zu berücksichtigen. Bei Korrektur dieses Fehlers stimmen ihre Ergebnisse mit unseren Messungen an reinem Quarz überein.

---

[1]) Z. B.: Abramson und Michaelis, J. gen. Physiol. **12** (1929) 587. [2]) Enslin, O., Lindau, G. und Rhodius, R., loc. cit. [3]) Dummet und Bowden, loc. cit.

Die kataphoretische Wanderungsgeschwindigkeit von Quarzpulvern in Abhängigkeit von der Bedeckung mit Ovalbumin.

Die folgenden Messungen der K.W. von Quarz-Ovalbuminadsorbaten wurden in $HA-NaA$-Puffer vom p_H 4·8 ausgeführt. Die Konzentration des Puffers (etwa $m/300$) entsprach einer gemessenen Stromstärke von 0·24 mA. Die Oberflächenbedeckung der Quarzteilchen mit Ovalbumin lag zwischen 0 und 60 %. V bedeutet die Geschwindigkeit der Quarzteilchen. Tabelle 4, Fig. 3, Kurve I.

Tabelle 4.

Elektrode	% Bedeckung	V relativ		V Mittel relative Zahlen	$V\mu$/sec/V/cm
$CuSO_4$-Agar	0			11·8	−2·8
Pt	0			9·6	−2·97
$CuSO_4$-Agar	15·4	20·2	20·1 ber.	20	−2·36
		20·0	18·9 „		
Pt	15·4	8·9	8·3 „	8·8	−2·48
		8·8			
$CuSO_4$-Agar	25·5	18·0	17·7 „	17	−2·0
		14·5	18·0 „		
		15	18·9 „		
$CuSO_4$-Agar	37·2	12·1	11·6 „	12·2	−1·44
		12·4	9·1 „		
Pt	37·2	5·3	6·0 „	6·0	−1·69
		7·1			
$CuSO_4$-Agar	59	8·2	7·1 „	7·6	−0·9

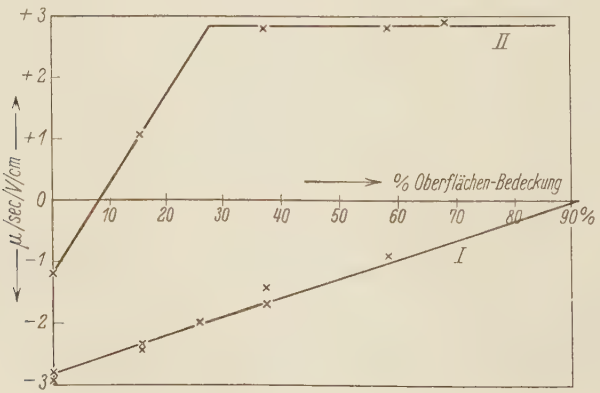


Fig. 3.

Man erhält innerhalb der Fehlergrenzen eine Gerade, die bei 91 %iger Bedeckung die Wanderungsgeschwindigkeit des Ovalbumin

bei p_H 4·8 ($V = 0$) erreicht. Als 100 %ige Bedeckung wurde der Wert aus der Adsorptionsisotherme gleich 1·88 mg/g (Pulver II) angenommen. Die Abweichung liegt nahe an der Fehlergrenze, doch ist es immerhin möglich, dass die lineare Funktion bei den höchsten Bedeckungen, wo die Beeinflussung der Eiweissmoleküle untereinander nicht mehr zu vernachlässigen sein wird, nicht exakt zutrifft. Die Versuche führen also zu dem gleichen Ergebnis bezüglich der Geradlinigkeit wie die Frumkins (loc. cit.). Aus der Tatsache, dass die Funktion ζ/Bedeckungsdichte bei $\zeta = 0$ zu einer Bedeckung von 91 % führt, darf man den Schluss ziehen, dass der Quarz die Ladung des adsorbierten Eiweisses annimmt, wenn eine vollständige, monomolekulare Bedeckung vorliegt.

Zum Schluss sei nochmals die zur Ausbildung der monomolekularen Schicht benötigten Eiweissmengen, die auf verschiedenen Wegen erhalten wurden, für 1 g des Quarzpulver II verglichen:

1·94 mg berechnet aus den Svedbergschen Molekülangaben für engste Kugelpackung.

1·88 mg extrapoliert aus der Adsorptionsisotherme.

1·92 mg Sättigungswert nach dem Auswaschversuch.

1·71 mg kataphoretisch bestimmt aus der Gerade ζ/ %ige Bedeckung.

III. Die bei Sättigung adsorbierte Menge Ovalbumin in Abhängigkeit von der Acidität der Lösung.

Die Deformation des Proteinmoleküls.

Die charakteristische Abhängigkeit der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Proteine von der Acidität der Lösung (im Stabilitätsbereich) wird darauf zurückgeführt, dass an den Molekülen selbst reversible Vorgänge eintreten, die zu einer Änderung der Ladung und wohl auch der scheinbaren Grösse des Moleküls führen. Die Viscosität erreicht im isoelektrischen Punkt (I.P.) ein Minimum und steigt im sauren wie im alkalischen Gebiet stark bis zu einem Maximum an. Dagegen ist die adsorbierte Menge Eiweiss im I.P. maximal. Beide Beobachtungen weisen auf ein Volumenminimum des Moleküls im I.P. Auch an der Grenzfläche flüssig–flüssig wurde von Przylecki und Grynberg[1]) in der Nähe des I.P. ein Adsorptionsmaximum gefunden. Im Gegensatz zu diesen unter sich übereinstimmenden Beobachtungen

[1]) v. Przylecki, St. J. und Grynberg, M. Z., Biochem. Z. **270** (1934) 203.

fanden Gorter, van Ormondt und Dom[1]), dass die Ausbreitung von Eieralbumin an der Grenzfläche flüssig–gasförmig im I.P. ein scharfes Maximum hat und nach beiden Seiten zu einem Minimum abfällt. Demnach wäre der Platzbedarf eines Proteinmolekül im I.P. maximal, während die obigen Beobachtungen das Gegenteil zeigen.

Unsere Versuche ergaben eine neue Möglichkeit, das Verhalten des Eiweisses bei p_H-Änderung zu prüfen. Wir massen die Änderung der Ladung von Quarz-Albuminadsorbaten mit unvollständig ausgebildeter Adsorptionsschicht bei veränderter Acidität. Es wurden die bei p_H 4·8 gemessenen Quarz-Albuminpräparate verwandt, deren ζ jetzt in einer Pufferlösung vom p_H 3·3 (verdünnte Essigsäure) gemessen wurde. Das Ergebnis der Messungen zeigt die Kurve II in Fig. 3.

Die als Bedeckung gegebenen Prozentzahlen beziehen sich auf die Belegungsdichten, die aus der Adsorptionsisotherme errechnet wurden. Wir überzeugten uns im gesonderten Versuch, dass bei Änderung der Acidität kein Eiweiss aus der noch unvollständig ausgebildeten Schicht in die Lösung übertrat. Ein mit 15·4 % Eiweiss bedecktes Quarzpulver enthielt 0·29 mg/g, eine Menge, die sich auch nach eintägigem Auswaschen mit Wasser oder HA (p_H etwa 3) nicht änderte.

Die Kurve zeigt einen deutlichen Knick. Nach anfänglich geradlinigem Anstieg der Ladung mit der Belegung wird oberhalb einer Bedeckung von etwa 28 %, die Ladung von der weiteren Bedeckungszunahme unabhängig, d. h. das Teilchen verhält sich schon bei 28 %iger Belegung, als wenn eine vollständige Adsorptionsschicht ausgebildet wäre. Die K.W. betrug bei Sättigung $+2{\cdot}85\,\mu/\mathrm{sec}/V/\mathrm{cm}$, in Übereinstimmung mit entsprechenden Messungen von Howitt und Prideaux[2]) an 1 %igem Goldsol-Eieralbumin bei p_H 3·3, die $+2{\cdot}7\,\mu/\mathrm{sec}/V/\mathrm{cm}$ angeben. Man muss aus diesen Versuchen schliessen, dass Eieralbumin bei p_H 3·3 einen Platzbedarf hat, der etwa das drei- bis vierfache desjenigen bei p_H 4·8 beträgt.

Nach Hitchcock (loc. cit.) adsorbieren Kollodiummembranen im I.P. etwa die 2·5fache Menge wie bei p_H 3 und p_H 10. Unterhalb p_H 3 steigt die Adsorption wieder, weil Aggregierung der Ovalbuminmoleküle eintritt (Svedberg). Ettisch, Domontowitsch und Mutzen-

[1]) Gorter, van Ormondt und Dom, Proc. Acad. Amsterdam **35** (1932) 1.
[2]) Howitt, F. O. und Prideaux, E. B. R., Proc. Roy. Soc. London (B) **112** (1932) 24.

BECHER[1]) erhielten ähnliche Resultate. Eine weitere Bestätigung für die Ergebnisse unserer kataphoretischen Versuche suchten wir durch direkte Bestimmung der Adsorptionssättigung bei verschiedenem p_H zu gewinnen. Wie oben beschrieben, liessen wir aus etwa 1%iger Lösung bei p_H 3·19 sowie p_H 11 an Quarz adsorbieren und wuschen erschöpfend mit verdünnten Pufferlösungen gleicher Acidität nach. Im I.P. wurde ein Adsorptionsmaximum gefunden mit 1·92 mg/g, bei p_H 3·19 hingegen 0·44 mg/g und bei p_H 11 0·14 mg/g. Im I.P. hätte also mehr als das vierfache Gewicht Eiweiss auf der Grenzfläche Platz, wie bei p_H 3·19 oder, da bei Sättigung eine monomolekulare Schicht ausgebildet wird, soll das Eiweissmolekül bei p_H 3·19 etwa das vierfache Volumen des Moleküls im I.P. haben. Dieser Sättigungswert 0·44 mg/g steht mit dem kataphoretisch extrapolierten bei p_H 3·3 : 0·52 mg/g recht gut im Einklang.

Die bei p_H 4·8 zu 15·4% bedeckte Quarzoberfläche erschien bei p_H 3·3 so, als wäre eine 56%ige Bedeckung vorhanden. Eine zu 27% bedeckte Oberfläche verhält sich bei p_H 3·3 wie 100% bedeckt. Bei höherer Belegungsdichte muss man erwarten, dass mit dem Übergang zu p_H 3·3 ein Teil der Proteinmoleküle infolge des erhöhten Platzbedarfes eine Verdrängung aus der Grenzfläche erleidet. Es handelt sich also um zwei ganz verschiedene Vorgänge, ob man ein bei p_H 4·8 teilweise bedecktes Ovalbumin-Quarzpulver oder ein bei p_H 4·8 100%ig bedecktes nunmehr bei p_H 3 auswäscht. Im Falle des teilweise bedeckten Pulvers hat das Eiweiss Platz zur zweidimensionalen Ausdehnung, während bei 100%ig bedecktem Pulver nur der Weg in die Lösung freibleibt. So wird man verstehen, dass im ersten Falle das Eiweiss am Quarz bleibt, im zweiten Falle hingegen desorbiert. Obgleich bei p_H 4·8 die Adsorption bis zur monomolekularen Schicht irreversibel verläuft, sollte man beim Auswaschen eines bei p_H 4·8 100%ig bedeckten Pulvers mit einer Lösung von p_H 3·3 einen merklichen Teil des Proteins noch entfernen können. Das ist tatsächlich der Fall. Es wurde ein 100%ig bedecktes, bei p_H 4·8 frisch hergestelltes Präparat zu einem Teil mit einer Lösung von p_H 4·8 und ein anderer Teil mit *HA* von p_H 3·16 weitergewaschen. Beide Pulver waren am Ende gleich lange Zeit ausgewaschen worden. Die Analyse ergab:

1·92 mg/g für das isoelektrisch,
1·16 „ für das sauer gewaschene Pulver.

Ein Teil des Eiweisses war von der Grenzfläche verdrängt worden, doch lange nicht so viel, als der monomolekularen Schicht bei p_H 3·3 (0·44 mg g) entspricht. Dieser Unterschied dürfte wohl auf die sekundäre, irreversible Bindung des adsorbierten Proteins zurückzuführen sein.

Nach ETTISCH ist das Adsorptionsmaximum der Proteine im I.P. derart zu erklären, dass deren Affinität zum Lösungsmittel dort

[1]) ETTISCH, DOMONTOWITSCH und MUTZENBECHER, Naturwiss. 18 (1930) 447.

minimal ist und daher die Arbeit, die das Eiweissmolekül in die Grenzfläche überführt, dort geringer ist als in den benachbarten p_H-Bereichen. Zwangloser erscheint uns nach den beschriebenen Versuchen die folgende Vorstellung: Bei maximaler Adsorption im I.P. lässt sich die monomolekulare Adsorptionsschicht aus Eiweissmolekülen in dichtester Kugelpackung aufbauen, d. h. aber, dass zwischen den Eiweissmolekülen in der Adsorptionsschicht keine abstossende Kräfte auftreten (Ladungsminimum). Im Zustand der elektrischen Aufladung dagegen treten die abstossenden Kräfte zwischen den stark genäherten Molekülen in Wirkung und führen zwangläufig zu einem erhöhten Raumbedarf des Eiweissmoleküls. Aus den Auswaschversuchen folgt, dass diese abstossenden Kräfte die Adsorptionskräfte überwiegen und dass das Adsorptionsmaximum stets durch diese Wechselwirkung entscheidend bestimmt wird. Eine Möglichkeit, diese Wirkung aus Änderungen im Bau des Moleküls zu erklären, wird später erörtert werden.

Unsere Ergebnisse stehen im Gegensatz zu den Messungen von Gorter und Mitarbeitern (loc. cit.) an Proteinfilmen, während sie sich mit den obenerwähnten Beobachtungen anderer Autoren decken. Von A. H. Hughes und E. K. Rideal[1]) wird die Richtigkeit der Gorterschen Versuche bezweifelt, denn sie halten es für möglich, dass nur ein Teil des auf die Oberfläche der Pufferlösungen aufgebrachten Eiweisses in der Grenzfläche bleibt. Zocher und Stiebel[2]) fanden ausserdem, dass die Filme der Proteine auf Wasser viele Unstetigkeiten aufweisen, während Filme auf Lösungen von p_H 1 vollkommen homogen sind. Nun scheint es nach den Ultrazentrifugemessungen von Svedberg[3]) sehr wahrscheinlich, dass die verschiedenen Proteine bei p_H 1 in kleinere Bruchstücke zerfallen, besonders, wenn zur Einstellung des Spreitungsgleichgewichtes 10 bis 30 Minuten benötigt werden. Vielleicht kann man diese abnorm dünnen Filme von etwa 10 Å Dicke, die Proteine vom Molekulargewicht 34000 bis 208000 nach Angaben von Gorter und Grendel[4]) bilden sollen, daraus erklären, dass lediglich die Eiweissbruchstücke an der Oberfläche adsorbiert werden.

IV. Die Benetzbarkeit von Quarz-Albuminadsorbaten in Abhängigkeit von der Bedeckungsdichte.

Freundlich, Enslin und Lindau (loc. cit.) hatten die Benetzungsgeschwindigkeit hydrophiler und hydrophober Pulver bei zunehmender Bedeckung mit Stoffen anderer Benetzbarkeit unter-

[1]) Hughes, A. H. und Rideal, E. K., Proc. Roy. Soc. London **137** (1932) 62. [2]) Zocher und Stiebel, Z. physik. Chem. (A) **147** (1930) 401. [3]) Svedberg in Pauli-Valkó „Kolloidchemie der Eiweisskörper" 1933. S. 201. [4]) Gorter und Grendel, Proc. Acad. Amsterdam **32** (1929) 770.

sucht. Dabei hatte sich gezeigt, dass bei der Adsorption eines hydrophilen Stoffes an einer hydrophoben Grenzfläche der Übergang von schlechter zu guter Benetzbarkeit in einem sehr schmalen Intervall der angewandten Konzentration des hydrophilen Stoffes eintritt. Das Entsprechende gilt für die Behandlung eines hydrophilen Pulvers mit einem hydrophoben Stoff. Bei mit Gelatine präparierten Realgarpulvern vermuteten sie, dass eine vollständige Hydrophilie des Adsorbates schon unterhalb einer vollständigen Bedeckung mit dem Kolloid eintritt, ohne eine quantitative Beziehung zwischen der Bedeckungsdichte und der Benetzbarkeit angeben zu können. Sie nahmen an, dass der Übergang zur völligen Benetzbarkeit bei Adsorption aus Lösungen in dem schmalen Konzentrationsintervall von 10^{-4} bis $3 \cdot 10^{-3}$ % in der gleichen Zone eintritt, in der auch das ζ-Potential der Adsorbate gleich dem des Eiweisses in der Lösung wird. Diesen Zusammenhang nachzuprüfen erschien deswegen besonders lohnend, weil man in der Messung der Benetzbarkeit eine besonders einfache Methode zur Ermittelung von Belegungsdichten der Pulveroberflächen gewinnen könnte.

Es wurde deshalb die Zeitabhängigkeit der Imbibition von Quarz-Albuminpulvern mit Wasser bei bekannter Ovalbuminbedeckung in dem von Freundlich, Enslin und Lindau beschriebenen Apparat gemessen.

Da die im Endzustand aufgenommene Flüssigkeitsmenge von Faktoren abhängt, die mit der Benetzbarkeit nichts zu tun haben, wählten wir zum Vergleich der erhaltenen Resultate diejenigen Zeiten, nach denen eine Flüssigkeitsmenge von 0·15 cm³ aufgenommen ist. Dieser Wert wurde gewählt, weil die beobachteten Zeiten bei schwer wie bei leicht benetzbaren Pulvern dann noch bequem vergleichbar bleiben.

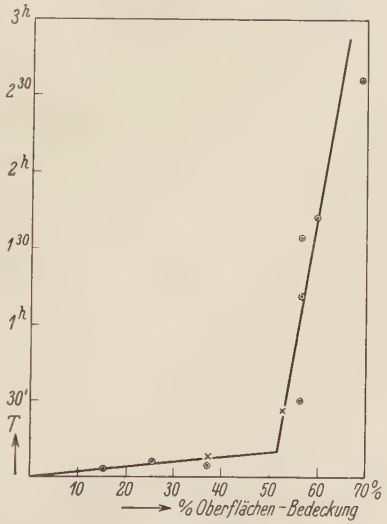


Fig. 4.

Die Fig. 4 zeigt die Abhängigkeit der Imbibitionszeit von der Bedeckungsdichte des Quarzpulvers. Es könnte überraschen, dass die Benetzbarkeit mit zunehmender Bedeckung stark abnimmt, obwohl das Eieralbumin zu den hydrophilen Kolloiden gerechnet werden muss. Die Hydra-

tation des Eieralbumins in Lösung ist allerdings wesentlich geringer als z. B. die der Gelatine, wie schon aus den verschiedenen Viscositäten äquivalenter Lösungen hervorgeht. Die Benetzungsgeschwindigkeit ist ein Mass für die Affinität zwischen Protein und der benetzenden Flüssigkeit. Nach den Vorstellungen von Przylecki und Grynberg[1]) bestimmt das Verhältnis von hydrophilen, polaren Gruppen zu hydrophoben nichtpolaren Gruppen in erster Annäherung die Verwandtschaft des Proteins zum Wasser. So hat in der Tat Gelatine nach E. Waldschmidt-Leitz einen wesentlich grösseren Gehalt hydrophiler Bausteine als Ovalbumin und die meisten anderen Proteine. Vielleicht hängt die Hydrophobie des adsorbierten Albumins damit zusammen, vielleicht wird auch von dem adsorbierten Protein eine dünne Gashaut hartnäckig festgehalten, die die Benetzung verhindert, wie das aus zahlreichen Beispielen ähnlicher Art bekannt ist.

Die Benetzungszeit T (0·15 cm³) der Quarzalbuminpulver steigt linear mit der Oberflächenbedeckung bis zu einem T von 8′ bei 50 %iger Bedeckung. Oberhalb dieses Grenzwertes steigen die Benetzungszeiten sehr stark an. Das zu 69 % bedeckte Pulver wird nicht mehr vollständig benetzt, es stellt sich vielmehr ein Gleichgewicht ein, das über 3 Wochen konstant blieb. Dadurch wird verständlich, dass Freundlich, Enslin und Lindau bei den mit Ovalbumin präparierten hydrophoben Realgarpulvern fast keine Änderung der Hydrophobie fanden, während das Pulver beim Zusatz geringer Mengen Gelatine sofort benetzt wird. Mit Ovalbumin bedeckte Eisenoxydpulver waren gleichfalls sehr hydrophob. Mit Gelatine bedeckte Quarzpulver sind naturgemäss sehr hydrophil.

Die Kurve zeigt, dass ein sehr plötzlicher Übergang vom hydrophilen zum hydrophoben Zustand bei etwa 50 %iger Bedeckung der Oberfläche eintritt. Das steht im Gegensatz zu der Meinung von Freundlich, Enslin und Lindau; eine Symbasie zwischen Benetzbarkeit und ζ-Potential ist nicht vorhanden. Die kritische Belegungsdichte von 50 % findet sich auch in anderen Systemen wieder. So geben Freundlich und Mitarbeiter an, dass Kristallviolett-Quarzpulver völlig hydrophob werden, wenn etwa 60 % der Oberfläche bedeckt sind. Der Wert beruht allerdings auf einer Schätzung der Oberfläche des verwendeten Quarzpulvers, gibt aber sicher eine ungefähre richtige Vorstellung.

[1]) Przylecki und Grynberg, loc. cit.

Die kritische Bedeckung wird dann erreicht sein, wenn die adsorbierte Substanz die Oberfläche in irgendwie zusammenhängender Fläche bedeckt. Ähnlich einer Emulsion, bei der je nach den Konzentrationsverhältnissen ein Übergang der dispersen in die geschlossene Phase eintreten kann, wird man sich hier vorzustellen haben, dass die anfangs getrennt vorhandenen Teilgebiete der adsorbierten Substanz sich mit steigender Bedeckung schliesslich vereinen und dann eine kohärente Schicht des Adsorptives vorliegt, in der noch unbedeckte Flecken des Adsorbens verteilt sind. Da es sich hierbei lediglich um das Verhältnis der Flächengrösse von hydrophilen zu hydrophoben Anteilen handelt, wird man, wenn die Adsorption regellos, statistisch stattfindet, damit rechnen können, dass bei etwa 50 % iger Bedeckung ein Zustand in den anderen übergeht.

Man konnte daher versuchen, die Benetzungskurve auch dadurch zu gewinnen, dass man ein weitgehend bedecktes Pulver mit Anteilen eines ovalbuminfreien Pulvers vermischte. Aus der Gesamtoberfläche und dem gesamten vorhandenen Albumin würde sich die jeweilige Bedeckungsdichte berechnen lassen. Käme es, wie oben angenommen wurde, nur auf das Verhältnis bedeckter zu unbedeckter Fläche an, so müssten die T-Werte dieser Mischpulver mit den T-Werten übereinstimmen, die man bei homogenen Quarzpulvern gleicher Bedeckungsdichte ermittelt. Drei derartige Mischpulver, deren Zusammensetzung im folgenden angegeben ist, wurden hergestellt. Tabelle 5 enthält die gemessenen T-Werte, die zugleich in Fig. 4 als Kreuze eingetragen sind.

Tabelle 5.

Zusammensetzung der Mischpulver	% Bedeckung	T 0·15 cm³
0·66 g Quarzalbumin (1·06 mg/g) 0·353 g Quarzpulver rein 1·013 g	37	7′
0·548 g Quarzalbumin (1·29 mg/g) 0·452 g Quarzpulver rein 1·000 g	37	7′
0·80 g Quarzalbumin (1·29 mg/g) 0·24 g Quarzpulver rein 1·04 g	53	25·5′

Die erwartete Übereinstimmung besteht vollständig, man kann darin einen Beweis für die Richtigkeit der oben über die Benetzung entwickelten geometrischen Vorstellungen erblicken. Diese Befunde erscheinen für die Frage der Benetzung bei Flotationsvorgängen, bei denen es ja auch stets auf den Übergang vom hydrophoben zum hydrophilen Zustand ankommt, von wesentlicher Bedeutung.

Wir bestimmten schliesslich die nach völliger Benetzung von 1 g Quarzpulver aufgenommene Flüssigkeitsmenge in Abhängigkeit von der Bedeckungsdichte des Quarzes mit Ovalbumin. Die Endwerte liessen sich nicht genau reproduzieren, weil es unmöglich war, die Pulver ganz gleichartig in den Apparat zu bringen. Immerhin lassen die Versuche deutlich erkennen, dass das aufgenommene Wasservolumen angenähert proportional der Bedeckungsdichte zunimmt. Eine Quellung des adsorbierten Proteins kann diese Steigerung (z. B. 0·16 cm^3 Wasserzunahme bei 1·06 mg Ovalbuminzunahme) nicht erklären. Vielmehr ist anzunehmen, dass die Packungsdichte des Pulvers sich mit steigendem Eiweissgehalt ändert, wobei die Ladung der Teilchen die entscheidende Rolle spielt. Das Verhalten entspricht vollkommen dem von sedimentierenden Pulvern, es sollte also die Packungsdichte mit abnehmender Ladung abnehmen und damit die aufgenommene Flüssigkeitsmenge ansteigen, übereinstimmend mit unseren experimentellen Beobachtungen. Einen ganz analogen Zusammenhang hatten Freundlich und Lindau[1]) bei den Sedimentvolumina von Quarz in Proteinlösungen verschiedener Acidität beobachtet, und daraus die Lage des I.P. des Proteins bestimmt. Eine genauere Untersuchung dieser interessanten Zusammenhänge steht noch aus. Da das ζ-Potential bei 100 % iger Bedeckung konstant wird, hätte man hier ein einfaches Verfahren, die Bildung einer monomolekularen Adsorptionsschicht zu ermitteln.

V. Theoretische Schlussfolgerungen über das Verhalten der Proteinmoleküle im adsorbierten Zustand und in Lösung.

Die Angaben der Literatur gestatten nicht, eindeutig zu entscheiden, ob die Eigenschaften des Proteinmoleküls in der Grenzfläche merklich verändert sind. Abramson[2]) scheint in seinen späteren Arbeiten eine derartige Veränderung für wahrscheinlich zu halten, wenn er zur Erklärung seiner ζ-Potentialmessungen eine mehrmoleku-

[1]) Freundlich, H. und Lindau, G., Biochem. Z. **234** (1931) 170. [2]) Abramson, J. gen. Physiol. **15** (1932) 575.

lare Schicht annimmt. Unsere Versuche haben den eindeutigen Beweis dafür erbracht, dass man mit einer mehrfachen Molekülschicht niemals rechnen kann. Immer wird höchstens eine monomolekulare Schicht angelagert, trotzdem zeigt sich, dass die Eigenschaften dieser Schicht weitgehend übereinstimmen mit denen der gelösten Proteinmoleküle. So ist z. B. der I.P. und die p_H-Abhängigkeit der Aufladung gleich der der gelösten Moleküle. Das Volumen der Ovalbuminmoleküle in der Grenzschicht, wie es sich aus der adsorbierten Menge berechnen lässt, stimmt im I.P. mit dem Volumen überein, welches SVEDBERG für die in Lösung befindlichen Moleküle berechnete. Sogar die Volumenänderungen der gelösten Moleküle, auf die man im sauren wie alkalischen Gebiet auf Grund der Viscositätsmessungen geschlossen hat, treten in völlig gleicher Art an adsorbierten Molekülen auf. Der Beweis quantitativer Übereinstimmung allerdings ist durch unsere Versuche noch nicht erbracht. Andererseits konnten wir erneut zeigen, dass die Adsorption stets irreversibel verläuft, dass also das adsorbierte Molekül unter der Wirkung sehr erheblicher Kräfte steht. Es ist offenbar ein Widerspruch zwischen der Tatsache, dass einerseits das Eiweiss irreversibel adsorbiert ist, also auch an der Oberfläche wahrscheinlich verändert ist, während es sich andererseits nach aussen (Kataphorese) verhält wie Eiweiss in Lösung.

Wir halten die folgende theoretische Erklärung für die wahrscheinlichste: Das Ovalbuminmolekül hat einen Durchmesser von etwa 43 Å, das ist eine Grösse, die diejenige normaler Moleküle, mit denen man hauptsächlich Adsorptionsversuche angestellt hat, ganz wesentlich übertrifft. Die Reichweite der Adsorptionskräfte ist nach neueren Vorstellungen zwar von merklicher Grösse, jedoch fällt das Adsorptionspotential ganz ausserordentlich stark mit der Entfernung von der Wand ab, mit der dritten Potenz des Wandabstandes[1]).

[1]) Anmerkung: Auf Grund einer atomtheoretischen Deutung der Adsorptionskräfte von LONDON und POLANYI wurde später von KALLMANN und WILLSTÄTTER, ferner von RUBIN in bisher nicht veröffentlichten Arbeiten die Kräfte zwischen einer Wand (Adsorbens) und Molekeln kolloider Grösse (Kugel) berechnet. Man kann aus ihren Ergebnissen die Bindungskraft der monomolekularen Schicht und einer zweiten Schicht in Relativzahlen berechnen und die Bindungskräfte beider Schichten vergleichen unter den vereinfachenden Annahmen, dass die erste adsorbierte Schicht das Feld der Adsorptionskräfte nicht verzerrt, und dass es sich um unpolarisierbare Moleküle handelt. Da die Bindungskraft im Abstand 0 von der Wand unendlich gross wird, muss man die engstmögliche Näherung der Moleküle an die Wand in die Gleichung einsetzen. Wir nahmen hierfür Abstände an, die denen chemischer

Frazer[1]) konnte auf optischem Wege die Dicke der Adsorptionsschicht von Wasserdampf, sowie Methylalkoholdampf an Glasoberflächen bestimmen. Sie ergab sich zu 3 Å bzw. 9 Å. Nun zeigt sich, dass die Reichweite der Adsorptionskräfte nicht wesentlich grösser ist, als etwa einer derartigen Schicht entspricht. Die Bindung von Molekülen, deren Durchmesser wesentlich grösser ist als die Reichweite der Adsorptionskraft, kann daher nur an der dem Adsorbens zugewandten Stelle des Moleküls stattfinden. Es kann diese Bindung natürlich mehr oder weniger fest, d. h. die Adsorption reversibel oder irreversibel sein. Wesentlich ist jedoch, dass das Molekül mit einem Teil aus dem Adsorptionsraum hinausragt, mit diesem Teil also keiner äusseren Kraftwirkung mehr unterliegt. Wenn das Molekül, wie im Falle des Ovalbumin, symmetrisch gebaut ist, so wird der dem Adsorbens zugewandte Teil sich in seiner Struktur von dem nach aussen ragenden Teil nicht unterscheiden. Die Feldwirkung hat also auf die Eigenschaften des adsorbierten Moleküls, die man nur an dem nach aussen ragenden Teil prüft, keinen Einfluss. Damit wird verständlich, dass trotz irreversibler Adsorption das adsorbierte Eiweiss die gleichen Eigenschaften hat, wie das in Lösung.

Es erklärt sich daraus auch die Tatsache, dass bei Adsorptionssättigung die Schicht stets monomolekular ist, denn die Anziehungskräfte zwischen den adsorbierten und gelösten Molekülen sind ja gleich denen in der Lösung. Ein derartiges Verhalten sollten demnach sämtliche Moleküle zeigen, die bei merklicher Grösse einen weitgehend symmetrischen Bau aufweisen. Asymmetrische Moleküle werden polar adsorbiert und können daher durch die orientierte Lagerung leicht eine weitere Molekellage anlagern, wie das besonders bei den fettsauren Molekülen bekannt ist (Kallmann und Kreidl)[2]).

Bindungen entsprechen, also Grössen zwischen 1 bis 5 Å. Unter dieser Annahme wäre die erste Schicht der Ovalbuminmoleküle ($r = 22$ Å) 47fach stärker gebunden als die zweite Schicht, entsprechend einem engsten Abstand von 1 Å bzw. 10fach stärker gebunden als die zweite Schicht bei 5 Å Minimalabstand vom Adsorbens. Andererseits würde die erste Schicht eines Kugelmoleküls von $r = 2$ Å nur 1·7-(Engstabstand 5 Å) bis 4·7-(Engstabstand 1 Å) mal stärker gebunden sein, als die zweite Schicht. Daraus wird der Unterschied ersichtlich, welcher zwischen der Adsorption von Molekülen normaler Grösse und Molekülen kolloider Dimensionen besteht. Während bei kolloiden Molekülen die Ausbildung einer zweiten Schicht recht unwahrscheinlich ist, treten bei kleinen Molekülen nur geringe Änderungen der Adsorptionskraft auf und lassen mehrmolekulare Schichten zu.

[1]) Frazer, J. H., Physic. Rev. **33** (1928) 97. [2]) Kallmann und Kreidl, Z. physik. Chem. **159** (1932) 322.

Eine besondere Erörterung erfordern die Messungen über den Raumbedarf der Ovalbuminmoleküle in der Grenzfläche bei Aciditäten jenseits des I.P. Nach dem Gesagten ist man berechtigt, die Eigenschaften der an der Grenzfläche adsorbierten Moleküle (Kataphorese, Adsorption) mit denen der gelösten Moleküle, besonders der Viscosität, in Beziehung zu bringen. In beiden Fällen zwingen die Beobachtungen zu dem Schluss, dass mit der Entfernung vom I.P. das Volumen des Moleküls ansteigt. Schon andere Autoren versuchten, diese Volumenänderung innermolekular zu deuten.

Nach Mark und Meyer[1]) sind im I.P. die NH_2- und $COOH$-Gruppen des Eiweissmoleküls einander weitgehend genähert, eine Deformation, die die einfache C—C- und C—N-Bindung erlaubt. Im I.P. ist das Molekül ein kompliziertes Knäuel. Bei Aufladung entfernen sich die NH_2- und $COOH$-Gruppen voneinander und die Ketten werden mehr oder weniger stark abgespreizt. Das zwischen diesen Gruppen eingelagerte Wasser ist weitgehend blockiert. Ähnlich sprechen sich G. Ettisch und G. V. Schulz[2]) in einer Arbeit über die Viscosität des Caseins aus: Bei p_H-Änderungen und Salzzusätzen finde eine Dehnung des Moleküls statt. Nebenvalenzketten würden von Hauptvalenzketten abgeklappt, infolge elektrostatischer Abstossung. Überschreitet die Dehnung einen kritischen Wert, so beginnt der irreversible Abbau (Sekundärreaktion).

Unsere Beobachtungen zwingen zu ähnlichen Schlüssen. Im folgenden sei daher der Versuch gemacht, einen möglichen Mechanismus dieser innermolekularen Vorgänge in schematischer Form darzustellen, der zugleich unsere experimentellen Befunde befriedigend wiedergibt:

Im I.P. muss das nach aussen neutral erscheinende Molekül eine gleiche Anzahl positiv und negativ geladener Gruppen enthalten. Nach der Zwitterionentheorie sind die Gruppen weitgehend dissoziiert, aber einander genähert oder sogar komplex gebunden:

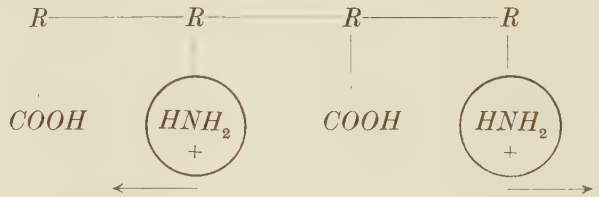
Die NH_2- und $COOH$-Köpfe der langen Seitenketten sind die Orte der normalen p_H-unabhängigen Wasserbindung (H. H. Weber)[3]).

[1]) Mark, H. und Meyer, K. H., Der Aufbau hochpol. org. Naturstoffe 1930. S. 232. [2]) Ettisch, G. und Schulz, G. V., Biochem. Z. **239** (1931) 48. [3]) Weber, H. H., Biochem. Z. **204** (1929) 215; **218** (1930) 1.

Der Raum zwischen den Ketten ist infolge der Näherung der Köpfe stark verkleinert und enthält daher wenig oder gar kein Wasser. Das Molekül hat also kleinstes Volumen oder grösste Dichte. Die VAN DER WAALSsche Kraft des Moleküls wird im I.P. auf den kleinsten Raum konzentriert und daher maximal. Das Verschwinden der elektrischen Abstossungskräfte zusammen mit dem stärkeren VAN DER WAALSschen Kraftfeld bewirkt eine Instabilität der Eiweissmoleküle im I.P., die bis zur Flockung führen kann. Übereinstimmend damit ergibt sich im I.P.:

1. Minimum der Stabilität.
2. Minimum der Viscosität.
3. Minimale Bindungskraft für Elektrolyte.
4. Minimum der Gelquellung.
5. Minimaler Raumbedarf bei der Adsorption.

Im sauren Gebiet wird mit steigender $[H^+]$ die Dissoziation der $COOH$-Gruppen zurückgedrängt und es überwiegen die NH_2H^+-Gruppen, deren Dissoziation begünstigt ist. Man hat also ein positiv geladenes Eiweiss, dem etwa folgendes Schema entspricht:



polare Abstossung.

Die stark dissoziierten NH_2-Gruppen stossen einander ab und schaffen dadurch Raum zwischen den Ketten, in den nunmehr Wasser durch VAN DER WAALSsche Kräfte aufgenommen und blockiert werden kann. Das Gesamtvolumen nimmt durch diese Spreizung der Ketten stark zu, auf das zwei- bis fünffache je nach der Morphologie des Moleküls. Das Volumen ist vom Ladungszustand abhängig. Bei zu starker elektrostatischer Abstossung wird das Molekül an schwachen Stellen zerbrechen.

Im basischen Gebiet ist ein analoges Verhalten des hier negativ geladenen Moleküls zu erwarten. Für diese Auffassung sprechen:

1. Grosse Stabilität in sauren und alkalischen Lösungen, da das Molekül am wasserreichsten ist, einsinnige Ladung und geringste Dichte hat.

2. Maximum der Viscosität.
3. Maximum der Gelquellung.
4. Maximaler Raumbedarf bei der Adsorption.

Solche Volumenveränderungen bei variiertem p_H sind ganz allgemein dann zu erwarten, wenn im Molekül lange Seitenketten vorhanden sind, deren polare Endgruppen eine Veränderung der elektrostischen anziehenden bzw. abstossenden Kräfte erfahren, wenn sich die Acidität ändert. Besonders auffällig wird diese Erscheinung bei amphoteren hochmolekularen Stoffen.

Durch unsere Auffassung würde der krasse Gegensatz zwischen Paulis Hydratationstheorie[1]) und den Befunden von H. H. Weber, der keine Änderung der Hydratation mit der Ionisation nachweisen kann, überflüssig werden. Nach Pauli ist das Verhalten der Viscosität bei verschiedenen p_H nur durch eine polare Hydrathülle zu erklären: Im I.P. könne ein „flaches, dichtes, aber nicht weitreichendes Hydratationsfeld" ausgebildet werden, während in aufgeladenem Zustand ein „lockeres, weitreichendes Hydratationsfeld" entstände. „Während sich die Hydratationsenergie in den beiden Fällen nicht sehr unterscheiden muss, kann die verschiedene Hydratationstopik zu sehr verschiedenen Viscositätseffekten führen." Allerdings gibt Pauli dieser Auffassung auch nur den Wert einer zu prüfenden Anregung.

Vergleich unserer Anschauungen mit Messungen der Hydratation, Viscosität und Quellung.

Zur Prüfung des oben dargestellten Mechanismus sollen für das Ovalbumin die Messungen anderer Autoren untereinander und mit den unserigen verglichen werden.

Tabelle 6. Volumen und Radius des Ovalbuminmoleküls im I.P.

r cm	Volumen cm^3	g/cm^2	Autor
$2{\cdot}17 \cdot 10^{-7}$	$0{\cdot}43 \cdot 10^{-19}$	$3{\cdot}49 \cdot 10^{-7}$	Svedberg: Ultrazentrifuge
$2{\cdot}26 \cdot 10^{-7}$	$0{\cdot}48 \cdot 10^{-19}$	$3{\cdot}22 \cdot 10^{-7}$	Pauli und Frisch: Viscosität
		$3{\cdot}39 \cdot 10^{-7}$	Rhodius: Adsorptionsisotherme
	$0{\cdot}46 \cdot 10^{-19}$		Weber und Sörensen: Volumenberechnung.

Der Radius und das Volumen wurden aus Messungen der Viscosität, aus Sedimentationsmessungen mit der Ultrazentrifuge und aus Adsorptionsmessungen berechnet und stimmen trotz der Verschiedenheit der Methodik gut miteinander überein.

[1]) Pauli-Valkò, Kolloidchemie der Eiweisskörper. S. 263f.

Die letzte Volumenangabe der Tabelle berechneten wir aus dem Trockenvolumen des Eiweisses (spez. Gew. 1·3 nach CHICK und MARTIN)[1]) plus dem gebundenen Hydratwasser, das von SÖRENSEN und H. H. WEBER zu 33 % des Trockenvolumens angegeben wird. Das Eiweiss scheint im I.P. recht genau additiv aus diesen beiden Faktoren zu bestehen, da nur eine etwa 10 %ige Abweichung von den aus anderen Daten berechneten Volumen vorhanden ist.

Auch im sauren und alkalischen Gebiet findet unsere Auffassung qualitativ vollkommene Bestätigung. Das lehrt Tabelle 7. In ihr werden die nach verschiedenen Methoden berechneten Volumen des Eiweissmoleküls in saurer und alkalischer Lösung miteinander verglichen.

Tabelle 7.

p_H	r cm	Volumen cm³	Volumen Faktor	Autor
4·8	$2{\cdot}26 \cdot 10^{-7}$	$0{\cdot}69 \cdot 10^{-19}$	1	PAULI und FRISCH: Viscosität.
2	$3{\cdot}19 \cdot 10^{-7}$	$1{\cdot}37 \cdot 10^{-19}$	2	PAULI und FRISCH: Viscosität.
3			2·5	HITCHCOCK: Adsorption.
3·3			3·6	RHODIUS: Kataphorese.
12·3			3·7	PAULI und FRISCH: Viscosität.

Falls das Volumen des Eiweisses im I.P. gleich 1 ist, so erhält man für saures Eiweiss 2- bis 3·6fache Ausdehnung, für alkalisches 3·7fache Ausdehnung.

Während PAULI sich scheinbar das Eiweiss als ziemlich dichte Kugel vorstellt, die von einer Hydrathülle verschiedener „Topik" umgeben ist, wird nach unseren Anschauungen das Molekül je nach dem Ladungszustand mehr oder weniger gelockert unter erheblicher Einlagerung von Wasser. Dass aufgeladene Moleküle, in denen das Wasser noch Eigenbewegung, Lösefähigkeit hat, in Lösungen die gleiche Viscosität hervorrufen, wie eine Kugel vom gleichen Volumen, berechnete W. KUHN[2]) für ein lockeres Kugelsystem. Sein Kugelsystem setzte sich aus 400 kleinen Kugeln ($r = 10^{-6}$ cm) zusammen, die im Abstand von $2{\cdot}2 \cdot 10^{-5}$ cm zueinander standen und derart eine Kugelpackung mit einem Aussenradius $r = 10^{-4}$ cm bildete. Die Quellung dieses Modells betrug das 2000fache des Volumens der Trockensubstanz. Dieses Kugelsystem verhielt sich bezüglich der Viscosität wie eine massive Kugel mit dem $r = 10^{-4}$ cm.

[1]) CHICK und MARTIN, Kolloid-Z. **12** (1913) 69. [2]) KUHN, W., Kolloid-Z. **62**, 269.

Ob beim Eiweissmolekül nicht auch ein DONNAN-Gleichgewicht der Motor der Lockerung des Moleküls sein kann, müsste noch geprüft werden. Es erscheint durchaus nicht unwahrscheinlich; dafür spricht besonders der Einfluss der lyotropen Reihe auf die Viscosität. Die Voraussetzungen für die Einstellung eines DONNAN-Gleichgewichtes sind gegeben, doch erscheint das schon vorliegende Material für die verschiedenen Eiweisse zu gering, um quantitative Berechnungen durchzuführen.

Wie allgemein eine Volumenänderung der Eiweissmoleküle jenseits des I.P. auftritt, zeigt die folgende Übersicht in Tabelle 8. Es handelt sich um Viscositätsmessungen von PAULI und BLANK[1]). Die Faktoren bedeuten, wieviel grösser das Volumen des Moleküls ist im Verhältnis zu dem des isoelektrischen Moleküls. Leider sind die p_H nur die der Ausgangslösungen.

Tabelle 8.

Stoff	p_H	Faktor
1% Ovalbumin	2	2
	12·3	3·7
0·88% Serumalbumin . . .	2	4
	12·4	3·8 4·1
0·51% Glutin	2·3	5
	11·7	3·4
1·55% Glutin	1·8	2·5
	11·7	2
Gelatine[2])	2	2—5
	11	2—5
1% Pseudoglobulin	1·8	5·5
	12·5	4·5
2·37% Hämoglobin	11·7	8·7
	12·7	5

Der experimentelle Teil der vorliegenden Arbeit wurde in der Zeit vom 1. Oktober 1932 bis 15. März 1934 im Kaiser Wilhelm-Institut für physikalische Chemie und Elektrochemie in Berlin-Dahlem ausgeführt.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, noch einmal an dieser Stelle Herrn Professor Dr. H. FREUNDLICH für sein ständiges liebenswürdiges Interesse an dieser Arbeit zu danken, in gleichem Masse Herrn Dr. G. LINDAU für eine Menge wertvoller Ratschläge jeder Art.

[1]) PAULI und BLANK: PAULI-VALKÒ, Kolloidchemie der Eiweisskörper 1933. S. 268. [2]) Gelatine an Kollodium: HITCHCOCK loc. cit. Adsorption von Gelatine an Kohle: HAUGE, S. M. und WILLAMANN, J. J., J. of Ind. and eng. Chem. **19** (1927) 943.

Lebenslauf.

Am 19. August 1910 wurde ich, Richard Karl Rhodius in Düren (Rheinland) als Sohn des Fabrikanten Dr. Richard Rhodius und seiner Frau Hertha geb. Schoeller, geboren. Nach dreijährigem Besuch der Evangelischen Volksschule in Düren bezog ich Ostern 1919 das dortige Realgymnasium. Nach Ablegung der Reifeprüfung immatrikulierte ich mich Ostern 1928 an der Universität Freiburg i. Br., um als Hauptfach Chemie zu studieren. Seit dem W.-S. 1929/1930 besuchte ich die Praktika und Vorlesungen der Universität München und bestand dort Weihnachten 1931 das erste Verbandsexamen, Ostern 1932 das zweite Verbandsexamen. Im S.-S. 1932 hörte ich in Köln Vorlesungen über Volkswirtschaft und Betriebswirtschaft. Seit Oktober 1932 war ich im Kaiser Wilhelm-Institut für physik. Chemie und Elektrochemie mit der Anfertigung der vorliegenden Arbeit beschäftigt, deren experimenteller Teil Ostern 1934 beendet wurde.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig